Sérums d'agglutination d'Escherichia coli

FR

REF R30954901
R30955001
R30955101
R30955201
R30955301
R30955401
R30955501
R30955601
R30955701
R30955801
R30955901
R30956001
R30956101
R30956201
R30956301
R30956401
R30956501
R30956601

1. DOMAINE D'APPLICATION

Les sérums d'agglutination *d'Escherichia coli* sont destinés à être utilisés dans des tests d'agglutination pour l'identification présomptive des sérotypes d'*E. coli* traditionnellement associés à une gastro-entérite infantile.

Il est toutefois important de confirmer l'appartenance d'un organisme à l'espèce *E. coli* par un test biochimique pour établir l'identification sérologique étant donné que les différentes espèces d'entérobactéries présentent de nombreux composants antigéniques communs.

2. RESUME ET EXPLICATION DU TEST

La plupart des souches pathogènes d'*Escherichia coli* responsables de gastro-entérites infantiles présentent les réactions biochimiques classiques du type fécal comme le montre le tableau 1[1,2]. (Il se peut que certaines souches *d'E. coli* ne fermentent pas le lactose, qu'elles soient anaérogènes ou indole négatives. Ces souches ne doivent pas être exclues de l'analyse sérologique.)

Tableau 1

Glucose	Lactose	Mannitol	Inositol	Inuline	Adonitol	Cellobiose
+	+	+	–	–	–	–

Indole	H_2S	Uréase	Citrate de Simmons	Rouge de Methyl	Voges-Proskauer
+	–	–	–	+	–

Les espèces sont différenciées sérologiquement et les souches reconnues pathogènes correspondent à un nombre restreint de sérotypes. 2 types d'antigènes, O (somatique) et K (de surface) permettent leur distinction.

Les antigènes K qui caractérisent la plupart des souches entéropathogènes *d'E. coli* appartiennent au sous-groupe B. On les trouve sur les enveloppes ou capsules et ils sont inactivés par chauffage à 100°C pendant 1 heure. Les antigènes O thermostables restent intacts après ce traitement. Les sérums d'agglutination *d'Escherichia coli* contiennent des agglutinines pour les antigènes O et K. Elles ont été absorbées pour supprimer les réactions croisées apparaissant avec d'autres sérotypes très répandus *d'E. coli*.

3. PRINCIPE DE LA METHODE

Les tests sérologiques sont basés sur le fait que les anticorps contenus dans le sérum, produits en réponse à l'exposition à des antigènes bactériens, s'agglutinent avec les bactéries portant les antigènes homologues.

Il est conseillé d'analyser tout d'abord des cultures avec les sérums polyvalents destinés à être utilisés exclusivement avec les tests d'agglutination sur lame. Il faut examiner à la fois les cultures mixtes et les colonies sélectionnées à partir de la culture primaire. Lorsque la présence de types pathogènes a été constatée en utilisant les sérums polyvalents, une identification plus spécifique peut être obtenue avec les sérums monovalents. Ceux-ci sont appropriés pour les tests d'agglutination sur lame et en tube. Une réaction sur lame positive avec une colonie peut être due à la présence de l'antigène de surface K et le groupe O doit être confirmé par un test d'agglutination en tube en utilisant une suspension O, préparée en chauffant une suspension de la colonie pendant 1 heure à 100°C.

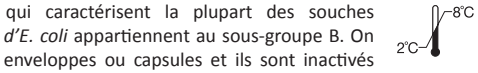
4. REACTIFS

COMPOSITION DU COFFRET

Sérums d'agglutination *d'E. Coli*	1 flacon compte-gouttes (2 ml)
ZA01/R30954901 *E. coli* Polyvalent 2 O26:K60 (B6), O55:K59 (B5), O111:K58 (B4), O119:K69 (B14), O126:K71 (B16)	
ZA02/R30955001 *E. coli* Polyvalent 3 O86:K61 (B7), O114:K90 (B), O125:K70 (B15), O127:K63 (B8), O128:K67 (B12)	
ZA03/R30955101 *E. coli* Polyvalent 4 O44:K74 (L), O112:K66 (B11), O124:K72 (B17), O142:K86 (B)	
ZA11/R30955201	*E. coli* O26:K60 (B6)
ZA12/R30955301	*E. coli* O44:K74 (L)
ZA13/R30955401	*E. coli* O55:K59 (B5)
ZA14/R30955501	*E. coli* O86:K61 (B7)
ZA15/R30955601	*E. coli* O111:K58 (B4)
ZA16/R30955701	*E. coli* O112:K66 (B11)
ZA17/R30955801	*E. coli* O114:K90 (B)
ZA18/R30955901	*E. coli* O119:K69 (B14)
ZA19/R0956001	*E. coli* O124:K72 (B17)
ZA20/R30956101	*E. coli* O125:K70 (B15)
ZA21/R30956201	*E. coli* O126:K71 (B16)
ZA22/R30956301	*E. coli* O127:K63 (B8)
ZA23/R30956401	*E. coli* O128:K67 (B12)
ZA24/R30956501	*E. coli* O142:K86 (B)
ZA25/30956601	*E. coli* O18c:K77 (B21)

DESCRIPTION, PREPARATION POUR UTILISATION ET CONDITIONS DE CONSERVATION RECOMMANDEES

Se référer également au paragraphe **Précautions et restrictions d'emploi**.



Les sérums doivent être conservés entre 2 et 8°C pour garder leur activité au moins jusqu'à la date inscrite sur le flacon.

AGGLUTINATING SERUM

Sérums d'agglutination d'E. Coli

Produits par des lapins et conservés avec du phénol à 0,5%. Les sérums sont fournis dans des flacons avec tétine et compte-gouttes. Chaque flacon contient 2 ml de liquide et est prêt à l'emploi.

Lors de leur conservation, il arrive que certains sérums se troublent légèrement. Ceci n'indique pas nécessairement leur détérioration et ne provoque normalement pas d'interférences avec les résultats ; les sérums peuvent cependant être clarifiés par centrifugation ou par filtration à travers une membrane (0,45 µm) avant l'emploi. Des sérums fortement troubles indiquent qu'ils sont contaminés et doivent être jetés.

5. PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

IVD

Destiné exclusivement au diagnostic *in vitro*.

Réservé exclusivement à un usage professionnel.

Pour obtenir des informations sur les composants potentiellement dangereux, se référer à la fiche de sécurité fournie par le fabricant et à l'étiquetage du produit.

INFORMATIONS DE SECURITE

1. Manipuler toutes les bactéries conformément aux directives appropriées en vigueur.
2. L'équipement non jetable doit être stérilisé en utilisant une procédure appropriée après l'emploi, bien que la méthode la plus recommandée soit la stérilisation par autoclave pendant au moins 15 minutes à 121°C. Le matériel à usage unique doit être stérilisé par autoclave ou incinéré.
3. Les éclaboussures de matériaux potentiellement infectieux doivent être éliminées immédiatement à l'aide d'un papier absorbant et les surfaces contaminées doivent être nettoyées avec un désinfectant antibactérien standard ou de l'alcool à 70%. Le matériel utilisé pour l'élimination des éclaboussures, y compris les gants, doit être éliminé comme s'il s'agissait de déchets biologiquement dangereux.
4. Ne pas effectuer de pipetages à la bouche. Pour manipuler les échantillons et effectuer le test, porter des gants à usage unique et des lunettes de protection. Une fois le test terminé, se laver soigneusement les mains.
5. Ces réactifs contiennent du phénol. Bien que sa concentration soit faible, le phénol est connu comme étant toxique par ingestion et par contact avec la peau. Ne pas avaler les réactifs. Si l'un d'entre eux entre en contact avec la peau ou les yeux, laver la surface en rinçant immédiatement et abondamment à l'eau.
6. Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, il est fortement recommandé de traiter les échantillons et réactifs comme s'ils étaient potentiellement infectieux et de les manipuler avec toutes les précautions nécessaires.

PRECAUTIONS D'ANALYSE

1. Ne pas utiliser les antisérums au-delà de la date de péremption indiquée. Eviter la contamination microbienne des antisérums, ceci pouvant provoquer des résultats erronés et réduire la durée de vie du produit.
2. Ne pas modifier la procédure du test ni le temps d'incubation ou les températures.
3. Après emploi, replacer les sérums à la température de conservation recommandée (2 à 8°C).
4. Les antisérums polyvalents ne peuvent être utilisés qu'avec les tests d'agglutination sur lame.

6. PRELEVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Pour de plus amples informations sur le prélèvement et la préparation des échantillons, se référer à un manuel de référence. Il est recommandé d'utiliser des cultures récentes sur milieux non sélectifs, par exemple sur gélose nutritive.

7. PROCEDURE

MATERIEL FOURNI

Voir le paragraphe **Composition du coffret**.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Sérum physiologique (0,85%).
2. Lames de verre.
3. Anse microbiologique et bec bunsen.
4. Source de lumière sur fond sombre.
5. Tubes à essai et portoir.
6. Bain-marie (à température réglable) avec thermomètre.
7. Chronomètre.
8. Pipettes.
9. Sérum physiologique additionné de formol (0,5%).

PROCEDURE DU TEST

Test d'agglutination sur lame

Etape 1. Déposer 2 gouttes différentes (40 µl chacune) de sérum physiologique sur une lame de verre. Emulsionner les parties de la culture à tester avec une anse dans chaque goutte de sérum physiologique pour donner une suspension uniforme, bien compacte.

Etape 2. Dans l'une des suspensions utilisées, ajouter 1 goutte (40 µl) de sérum physiologique comme témoin et homogénéiser. Ajouter, dans l'autre suspension, 1 goutte (40 µl) d'antisérum non dilué et homogénéiser.

Etape 3. Faire osciller la lame pendant 1 minute et observer s'il se produit une agglutination, plus facilement visible sur un fond sombre éclairé par une lumière indirecte. Eliminer la lame utilisée selon les règles de désinfection appropriées.

Test d'agglutination en tube

Etape 1. L'antigène peut être préparé en mettant en suspension une colonie provenant d'une culture sur gélose inclinée dans du sérum physiologique ou dans du sérum physiologique additionné de formol (0,5%) pour donner une suspension de faible concentration (environ $7,5 \times 10^8$ organismes/ml). Cette suspension doit être chauffée pendant 1 heure à 100°C pour obtenir une suspension d'antigène O ; il est également possible d'utiliser un bouillonde culture de ces organismes chauffé pendant 4 à 6 heures.

Etape 2. Préparer des dilutions en série d'antisérum dans des volumes de 0,5 ml de sérum physiologique allant de 1/10ème à 1/640ème comme indiqué dans le tableau 2. Retirer 0,5 ml du tube 7. Il convient d'utiliser des tubes en verre avec un fond arrondi d'environ 9 mm x 85 mm.

Tableau 2

Tube nº	1	2	3	4	5	6	7	8
Sérum physiologique (ml)	0,9	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sérum de patient (ml)	0,1	Dilutions en série de 0,5 ml →						0
Dilution	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	Témoin

Etape 3. Introduire 0,5 ml de la suspension d'antigène dans chaque tube. Ceci a pour effet de doubler la dilution d'antisérum.

Etape 4. Prévoir un tube témoin, le tube 8, contenant uniquement de la suspension et du diluant.

Etape 5. Homogénéiser en retournant. Laisser incuber pendant la nuit(16 à 20 heures) à 50°C.

Etape 6. Observer s'il se produit une agglutination en utilisant une lumière indirecte.

8. RESULTATS

Agglutination sur lame

L'agglutination doit être forte et clairement visible au bout d'1 minute. Il ne doit se produire aucune agglutination visible dans la suspension témoin ; si ce n'est pas le cas, la suspension n'est pas appropriée pour une analyse par cette méthode.

Agglutination en tube

Dans une réaction positive, une agglutination granulaire manifeste doit apparaître. Il peut se produire un éclaircissement du liquide et un sédiment qui monte sous forme de masse granulaire puis se redépose au fond du tube en tapotant le tube. Dans le cas d'une réaction négative ainsi que pour le sérum physiologique témoin, l'aspect de la suspension doit rester inchangé et le sédiment doit se remettre en suspension en tapotant le tube. Une agglutination dans le tube témoin indique une suspension peu homogène qui n'est pas appropriée pour le test.

CONTROLE QUALITE

Il est recommandé de tester le produit, tout au long de son utilisation, avec des cultures positives et négatives connues.

Les cultures cellulaires homologues doivent être utilisées pour les organismes de contrôle positif. Pour les cultures de contrôle négatif, utiliser Hafnia alvei. Les cultures cellulaires peuvent être obtenues à partir des collections de culture de micro-organismes telles que celles du NCTC ou de l'ATCC.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Agglutination sur lame

Une agglutination non spécifique, qui diffère en apparence de l'agglutination spécifique, peut survenir avec la technique d'agglutination sur lame, surtout lorsque les bactéries utilisées sont issues de milieux sélectifs. Cette agglutination est généralement fine et lente à apparaître.

Agglutination en tube

Le titre du sérum est la dernière dilution montrant une agglutination positive. Un titre égalant ou approchant le titre inscrit sur le flacon doit indiquer une homologie.

Un titre d'agglutination de 1/20 n'est pas significatif ; un titre égalant ou approchant celui inscrit sur le flacon indique que l'antigène est du même groupe O que l'antisérum.

9. LIMITES DE LA METHODE

Les sérums sont spécifiques pour d'autres sérotypes très répandus d'*E. coli*. Il est toutefois important de confirmer tout isolat par des tests biochimiques et sérologiques étant donné que les différentes espèces d'entérobactéries présentent de nombreux composants antigéniques communs.

10. RESULTATS ATTENDUS

Agglutination visible en présence de cultures homologues.

11. CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES

Voir le paragraphe **Interprétation des résultats**.

12. BIBLIOGRAPHIE

1. International Enterobacteriaceae Subcommittee Reports (1958), *Int. Bull. bact. Nomencl. Taxon.*, **8**, 25.
2. **Edwards, P.R. and Ewing, W.H.** (1972). Identification of Enterobacteriaceae, 3rd Ed. Minneapolis, Burgess Publishing Co.

13. CONDITIONNEMENT

REF ZA01/R30954901.....2 ml
ZA02/R30955001.....2 ml
ZA03/R30955101.....2 ml
ZA11/R30955201.....2 ml
ZA12/R30955301.....2 ml
ZA13/R30955401.....2 ml
ZA14/R30955501.....2 ml
ZA15/R30955601.....2 ml
ZA16/R30955701.....2 ml

REF ZA17/R30955801.....2 ml
ZA18/R30955901.....2 ml
ZA19/R30956001.....2 ml
ZA20/R30956101.....2 ml
ZA21/R30956201.....2 ml
ZA22/R30956301.....2 ml
ZA23/R30956401.....2 ml
ZA24/R30956501.....2 ml
ZA25/R30956601.....2 ml

Légende des symboles

REF	Référence de catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Consulter le mode d'emploi
	Limite de température
LOT	Code de lot
	A utiliser avant
	Fabricant

CE

IFU X7814A Révisé Octobre 2013

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
Royaume-Uni

Pour tout support technique, contacter le distributeur local.